维普资讯 http://www.cqvip.com

动物学研究 2005, Jun. 26 (3): 311-316 CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

文昌鱼秦皇岛、青岛和厦门地理种群形态特征的分化

闫路娜[1], 左惠凯[1], 曹玉萍[2]
(1. 河北科技大学 生命科学与工程学院, 河北 石家庄 050018; 2. 河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002)

摘要: 把分别采自秦皇岛、青岛和厦门(各25尾)的文昌鱼种群的形态特征分为计数性状8个和计量性状10个,然后对18个形态特征进行ANOVA、聚类和主成分分析。结果表明:3地种群全长、体高和背腹鳍条数等18个形态特征的平均值均存在显著差异($P<0.05$),且种群间的变异大于种群内。进一步比较秦皇岛和青岛种群,除在口笠触须、背鳍条数、腹鳍条数和肌节总数4个特征较为相似外,其余14个特征均存在显著差异($P<0.05$);而青岛和厦门种群在全长、体高、腹孔肛门间肌节数、生殖腺数、吻鳍高、背鳍高、上尾鳍高等7个特征上更为相似($P>0.05$);此外,秦皇岛和厦门种群在腹鳍高、上尾鳍长和高、下尾鳍长和高等5个特征上存在相似性($P>0.05$)。聚类分析结果表明,75个样本明显分成两个类群:第二类群主要由厦门样本构成,而第一类群则主要由秦皇岛和青岛样本构成。由前3个主成分分析结果表明,所有样本可大致分为3个类群:秦皇岛、青岛和厦门类群。其中来自厦门的个体聚成一个明显的独立类群,而来自秦皇岛和青岛的样本在主成分分析图上则存在一定的交叉和重叠。总之,厦门地理种群分化最为明显,而秦皇岛和青岛种群在总体分化的趋势下,个体间形态特征仍存在相似性。

关键词: 文昌鱼; 形态特征; 多元统计分析
中图分类号: Q959.287 **文献标识码**: A **文章编号**: 0254-5853 (2005) 03-0311-06

Divergence in Qinhuangdao, Qingdao and Xiamen Geographical Populations of Amphioxus (*Branchiostoma belcheri* Gray) Based on Morphological Characters Analysis

YAN Lu-na[1], ZUO Hui-kai[1], CAO Yu-ping[2]
(1. *College of Biology & Engineering, Hebei University of Science & Technology, Shijiazhuang* 050018, *China*;
2. *College of Life Science, Hebei University, Baoding* 071002, *China*)

Abstract: The multivariate variance analysis, cluster analysis and principal component analysis (PCA) were conducted based on 18 morphological characters that including 8 numerical characters and 10 metric characters in amphioxus populations from Qinhuangdao (QHD), Qingdao (QD) and Xiamen (XM) with 25 samples, respectively. The results showed that significant difference ($P<0.05$) in means of 18 morphological characters such as length of body, height of body, number of dorsal/ventral septa etc., existed among 3 different amphioxus populations, and there were great variance among populations than within population. Multiple comparisons of the LSD of morphological characters of 3 amphioxus populations showed that QHD and QD populations existed significant difference ($P<0.05$) in 14 morphological characters, expected in number of buccal cirri, number of dorsal septa, number of ventral septa and number of total myotomes. QD and XM populations were no significant difference ($P>0.05$) in 7 morphological characters such as length of body, height of body, number of myotomes in middle, number of gonads, height of rostral fin, height of dorsal fin and height of supra-caudal fin. QHD and XM populations were similar ($P>0.05$) in 5 morphological characters, e.g. height of ventral fin, length and height of supra-caudal fin, length and height of sub-caudal fin. In the results of cluster analysis suggested that all of the 75 samples were divided into two clusters clearly. Cluster Ⅱ were mainly maded of 21 samples from XM population, while QHD samples and QD samples were pooled into cluster Ⅰ. The result of the first three principal components from PCA showed that there were about 3 groups gathered by the all samples, QHD, QD and XM groups. All samples from XM population were pooled into one independent group; QHD and QD groups were pooled with some individual swarmed and crossed each other showed from the graph of PCA. It is inferred that XM geographical population had

收稿日期: 2004-10-18; 接受日期: 2005-01-24
第一作者简介: 闫路娜 (1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为分子生态学。E-mail: yanluna@hebust.edu.cn

维普资讯 http://www.cqvip.com

been great genetic differentiation in morphological characters, and amphioxus populations from QHD and QD also had genetic divergence on the whole while similar in some morphological characters.

Key words: *Branchiostoma belcheri* Gray; Morphological characters; Multivariate statistical analysis

文昌鱼（*Branchiostoma belcheri* Gray）属于脊索动物门（Chordata）头索动物亚门（Cephalochordata）文昌鱼纲（Amphioxi）。一般认为，目前分布于我国各地的文昌鱼均属于白氏文昌鱼，共包括两个地理亚种：厦门亚种（主要分布于福建厦门、广东等海区）和青岛亚种（主要分布于河北秦皇岛、山东烟台、青岛胶州湾等浅海区）（Tchang & Koo，1936；Zhou，1958）。然而，最近有学者研究认为，应将原来的白氏文昌鱼青岛亚种提升为种，与南方的厦门亚种分别作为两个独立的种（Wang et al，2004）。

文昌鱼的种下鉴定主要是根据身体的肌节数和全体，并参考生殖腺数、口笠触须、鳍条数等特征（Tchang & Koo，1936；Zhou，1958）。但在鉴定过程中，由于某些个体的分类学特征变异较大，使不同产地标本的这些特征和数据出现重叠交错现象，给分类鉴定带来一定的困难（Cao et al，2001）。因此，这就需要我们探讨其他的分析方法，为种下界定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品来源

本研究所用文昌鱼标本于1999—2004年分别采集于秦皇岛昌黎海区（156尾）、青岛沙子口（101尾）和厦门欧厝（136尾）3个主要文昌鱼产地。在此基础上，使用SPSS10.0软件中的“Select Case”程序从三地文昌鱼种群中随机抽取25尾形态特征完整的个体作为研究对象。

1.2 方 法

1.2.1 形态特征的测定 根据形态特征的性质不同，将其分为8个计数性状和10个计量性状两类，共计18个形态特征。

计数性状的测定：将文昌鱼置于带光源的解剖镜下，用肉眼分别计数其背鳍条数、腹鳍条数、口笠触须数、肌节总数、腹孔前肌节数、腹孔至肛门间肌节数、肛门后肌节数和生殖腺数。

计量性状的测定：将文昌鱼体平放置培养皿中，用游标卡尺（精度为0.02 mm）测量其全长和体高；将文昌鱼体置于装有目镜测微尺的带光源解剖镜下测量其吻鳍长和高、背鳍高、腹鳍高、上尾鳍长和高、下尾鳍长和高。

1.2.2 形态特征的统计学分析 利用SPSS10.0软件的ANOVA程序对文昌鱼3个种群的变异来源进行了多变量方差分析（multivariate variance analysis）。将总变异划成了两个等级层次：组间（即地理种群间变异）和种群内个体间变异，并考察在哪个层次的变异是引起总体种群分化的主要来源。在此基础上，又分别对不同文昌鱼种群的形态特征进行LSD多重比较（所有P值均经过Bonferroni校正）；采用欧氏距离（Euclidean distant）对所有3地75尾文昌鱼的18个形态特征进行聚类分析（cluster analysis）；并通过描述原形态指标的均值和标准差，建立原指标间的相关矩阵（标准化），计算该矩阵的特征根和特征向量，再分别计算出各特征根对应的主成分，从而对文昌鱼种群进行样本的主成分分析（principal component analysis）（Song & Zhou，1998；Ma，2001；Li et al，2000）。

2 结果与分析

2.1 文昌鱼3个种群的形态学特征差异

秦皇岛、青岛和厦门三地的文昌鱼种群的全长、体高和背腹鳍条数等18个形态特征的平均值均存在显著差异（ANOVA，$P<0.05$），尤其在腹鳍条数、肌节总数和腹孔前肌节数上，种群间的变异大于种群内个体间，这说明三地文昌鱼在形态特征上已发生了明显的种群分化，应分属于不同的地理种群。

进一步对3地文昌鱼种群的18个形态特征均值差异进行多重比较（表1），结果发现：秦皇岛和青岛种群，除在口笠触须、背鳍条数、腹鳍条数和肌节总数4个特征较为相似外，其余14个特征均存在显著差异（LSD，$P<0.05$）；而青岛和厦门种群在全长、体高、腹孔肛门间肌节数、生殖腺数、吻鳍高、背鳍高、上尾鳍高等7个特征上更为相似（$P>0.05$）；此外，秦皇岛和厦门种群虽然在地理上相距最远，但在腹鳍高、上尾鳍长和高、下尾鳍长和高等5个特征上存在相似性（$P>0.05$），而青岛种群则发生了明显分化。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1　文昌鱼秦皇岛、青岛和厦门种群 18 个形态特征的差异

Tab. 1　Difference on 18 morphological characters of Qinhuangdao, Qingdao, and Xiamen amphioxus populations

形态特征 Morphological characters	1 ($n=25$)	2 ($n=25$)	3 ($n=25$)	合计 Total ($n=75$)	差异 Difference (F^p)			
					$F_{2,72}$	1－2	1－3	2－3
全长 (mm) Length of body	43.71±3.03 37.00～48.94	37.42±5.10 25.34～46.58	38.67±3.34 32.72～47.84	39.93±4.74 25.34～48.94	17.948**	6.29*	5.04*	1.25
体高 (mm) Height of body	4.07±0.26 3.50～4.72	3.67±0.42 2.72～4.38	3.79±0.25 3.28～4.32	3.84±0.36 2.72～4.72	3.224*	0.40*	0.28*	0.12
口笠触须 Number of buccal cirri	43.96±2.20 40.00～48.00	41.76±3.67 36.00～48.00	48.32±3.63 42.00～56.00	44.68±4.21 36.00～56.00	26.578**	2.20	4.36*	6.56*
背鳍条数 Number of dorsal septa	302.28±15.80 276.00～340.00	310.60±14.70 283.00～347.00	323.00±17.02 292.00～362.00	311.96±17.85 276.00～362.00	10.791**	8.32	20.72*	12.40*
腹鳍条数 Number of ventral septa	55.76±4.81 47.00～66.00	59.12±6.06 49.00～69.00	84.20±5.26 75.00～95.00	66.36±13.84 47.00～95.00	206.704**	3.36	28.44*	25.08*
肌节总数 Number of total myotomes	66.80±0.76 65.00～68.00	67.04±0.54 66.00～68.00	64.88±0.60 64.00～66.00	66.24±1.16 64.00～68.00	85.232**	0.24	1.92*	2.16*
腹孔前肌节数 Number of myotomes before atrioporal	38.80±0.58 38.00～40.00	39.24±0.52 38.00～40.00	36.88±0.44 36.00～38.00	38.31±1.15 36.00～40.00	147.650**	0.44*	1.92*	2.36*
腹孔肛门间肌节数 Number of myotomes in middle	18.24±0.60 17.00～19.00	17.56±0.58 16.00～18.00	17.28±0.46 17.00～18.00	17.69±0.68 16.00～19.00	20.162**	0.68*	0.96*	0.28
肛门后肌节数 Number of myotomes after anus	9.76±0.66 9.00～11.00	10.24±0.52 9.00～11.00	10.76±0.60 9.00～12.00	10.25±0.72 9.00～12.00	17.533**	0.48*	1.00*	0.52*
生殖腺数 Number of gonads	26.24±1.45 24.00～30.00	24.88±2.39 20.00～30.00	24.92±1.29 22.00～29.00	25.35±1.86 20.00～30.00	4.748**	1.36*	1.32*	0.04
吻鳍长 (mm) Length of rostral fin	0.84±0.07 0.68～0.98	0.74±0.09 0.59～0.99	0.94±0.07 0.78～1.03	0.84±0.11 0.59～1.03	8.993**	0.10*	0.09*	0.19*
吻鳍高 (mm) Height of rostral fin	0.87±0.08 0.66～1.03	0.74±0.10 0.59～0.93	0.78±0.05 0.69～0.88	0.80±0.10 0.59～1.03	10.513**	0.14*	0.10*	0.04
背鳍高 (mm) Height of dorsal fin	0.37±0.04 0.29～0.44	0.34±0.04 0.27～0.42	0.33±0.02 0.29～0.39	0.35±0.04 0.27～0.44	9.986**	0.04*	0.04*	0.00
腹鳍高 (mm) Height of ventral fin	0.41±0.05 0.34～0.53	0.35±0.05 0.25～0.44	0.40±0.06 0.29～0.49	0.39±0.06 0.25～0.53	10.874**	0.07*	0.02	0.05*
上尾鳍长 (mm) Length of supracaudal fin	4.06±0.50 3.28～5.05	3.59±0.41 2.70～4.26	3.86±0.40 3.14～4.75	3.83±0.47 2.70～5.05	7.340**	0.47*	0.20	0.27*
下尾鳍长 (mm) Length of subcaudal fin	5.79±0.47 5.05～6.86	4.94±0.57 3.58～6.13	5.58±0.41 4.95～6.37	5.43±0.60 3.58～6.86	20.159**	0.85*	0.21	0.64*
上尾鳍高 (mm) Height of supracaudal fin	0.41±0.06 0.32～0.64	0.35±0.03 0.29～0.39	0.38±0.05 0.29～0.49	0.38±0.05 0.29～0.53	10.833**	0.06*	0.03	0.03
下尾鳍高 (mm) Height of subcaudal fin	0.52±0.05 0.44～0.64	0.42±0.06 0.34～0.59	0.52±0.06 0.39～0.64	0.48±0.08 0.34～0.64	24.701**	0.10*	0.00	0.10*

1. 秦皇岛种群 (Qinghuangdao population)；2. 青岛种群 (Qingdao population)；3. 厦门种群 (Xiamen population)。

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ (LSD)。

2.2　文昌鱼 3 个种群形态学特征的聚类分析结果

聚类分析（图 1）结果表明，采集于三地的 75 尾文昌鱼样本依据欧氏距离可明显分成两个类群：第二类群（Ⅱ）主要由厦门样本构成（21 尾，占 95%）；而第一类群则主要由秦皇岛和青岛样本构成。根据样本间的欧氏距离，第一类群（Ⅰ）又可划分为两个亚类群，第一亚类群（Ⅰ′）中青岛样本共计 17 尾（占 57%），秦皇岛样本 12 尾（40%），厦门样本 1 尾；第二亚类群（Ⅰ″）中秦皇岛样本 13 尾（占 57%），青岛样本 7 尾（30%），厦门样本 3 尾。

维普资讯 http://www.cqvip.com

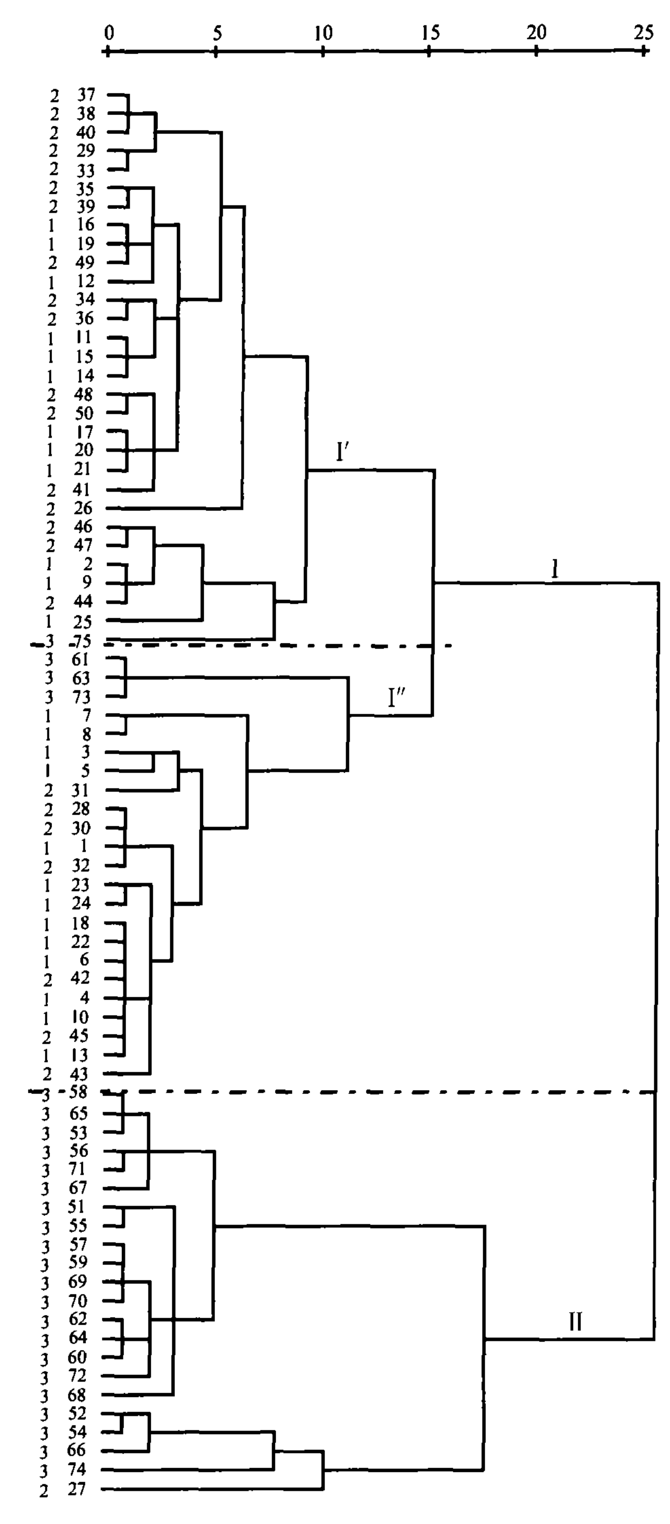


图 1 文昌鱼秦皇岛、青岛和厦门种群 18 个形态特征的欧氏距离聚类图

Fig. 1 Clustering dendrogram of Euclidean distant of Qinghuangdao, Qingdao and Xiamen amphioxus populations based on 18 morphological characters

1. 秦皇岛种群（Qinghuangdao population）；2. 青岛种群（Qingdao population）；3. 厦门种群（Xiamen population）。

2.3 文昌鱼 3 个种群形态学特征的主成分分析结果

三地文昌鱼 75 样本的 18 个形态特征的主成分分析结果表明，起作用的主成分共计 18 项，其中前 3 个主成分的累计贡献率为 60.87%（表 2）。第 1 主成分的贡献率为 28.69%，主要由全长、体高、背腹鳍高、上下尾鳍长和高等描述个体大小的计量特征所决定；第 2 主成分的贡献率为 23.40%，主要与口笠触须数、背腹鳍条数、肌节总数、腹孔前肌节数、腹孔至肛门间肌节数、肛门后肌节数等计数特征有关；第 3 主成分的贡献率为 8.78%，反映了吻鳍形状等部分特征。除此之外，其余主成分的贡献率均较低。由前 3 个主成分分析图（图 2）可以看出，所有样本大致可分为 3 个类群：秦皇岛类群、青岛类群和厦门类群。其中来自厦门的个体聚成一个明显的独立类群，而来自秦皇岛和青岛的样本在主成分构象图上则存在一定的交叉和重叠。说明厦门种群分化最为明显，而秦皇岛和青岛种群在总体分化的趋势下，个体间形态特征仍存在相似性。

3 讨 论

3.1 三地文昌鱼种群的形态差异

在物种系统分类研究中，地理隔离一直被认为是种及种下阶元形成的重要因素。Zhang et al (1988) 对秦皇岛、青岛、厦门及北部湾沿海采集的文昌鱼形态特征比较后认为，秦皇岛与青岛的文昌鱼主要特征极为相似，而与厦门的文昌鱼在腹鳍条数和肌节数上有明显差别。Cao et al (2001) 还结合秦皇岛、青岛、厦门三地的生态环境进行分析后认为，三地文昌鱼在生态环境和形态特征上均有一定差异，也得出秦皇岛与青岛文昌鱼相似程度更高的结论。Zhou et al (2003) 运用形态比较和 RAPD 分子标记技术，对厦门现有文昌鱼海域的 4 个地理种群进行遗传多样性研究，发现在不同海域的文昌鱼由于地理隔离，其种群均已发生了遗传分化。本文结果表明，三地文昌鱼种群在 18 个形态特征上均存在显著甚至极显著差异，加上秦皇岛、青岛和厦门海域地理位置相距较远，文昌鱼游泳能力较差，说明三地文昌鱼种群间在形态特征上已发生明显变异，形成了 3 个相对独立的地理种群。但从本文聚类分析和主成分分析图看，秦皇岛种群和青岛种群首先聚在一起，而厦门种群则形成了较为独立的分支。尽管秦皇岛种群和青岛种群已有一定

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2　文昌鱼 3 个种群形态学特征主成分分析的因子荷载值

Tab. 2　Factor loadings of principal components extracted from morphological characters in three populations of amphioxus

性状 Character	主成分 Principle component		
	1	2	3
全长 Length of body	0.859	-0.187	0.154
体高 Height of body	0.603	0.065	0.332
口笠触须 No. of buccal cirri	0.448	0.660	0.038
背鳍条数 No. of dorsal septa	-0.077	0.535	-0.131
腹鳍条数 No. of ventral septa	-0.094	0.915	-0.105
肌节总数 No. of total myotomes	-0.026	-0.882	0.133
腹孔前肌节数 No. of myotomes before atrioporal	-0.098	-0.898	0.045
腹孔肛门间肌节数 No. of myotomes in middle	0.334	-0.541	-0.129
肛门后肌节数 No. of myotomes after anus	-0.198	0.545	0.268
生殖腺数 No. of gonads	0.281	-0.239	-0.384
吻鳍长 Length of rostral fin	0.479	0.278	0.604
吻鳍高 Height of rostral fin	0.558	-0.271	0.576
背鳍高 Height of dorsal fin	0.620	-0.302	-0.294
腹鳍高 Height of ventral fin	0.633	0.117	-0.438
上尾鳍长 Length of supra-caudal fin	0.787	0.032	0.089
下尾鳍长 Length of sub-caudal fin	0.878	0.152	0.015
上尾鳍高 Height of supra-caudal fin	0.639	-0.071	-0.339
下尾鳍高 Height of sub-caudal fin	0.696	0.313	-0.251
各主成分贡献率 Variance explained (%)	28.70	23.40	8.78
累计贡献率 Cumulative percentage (%)	28.70	52.10	60.87

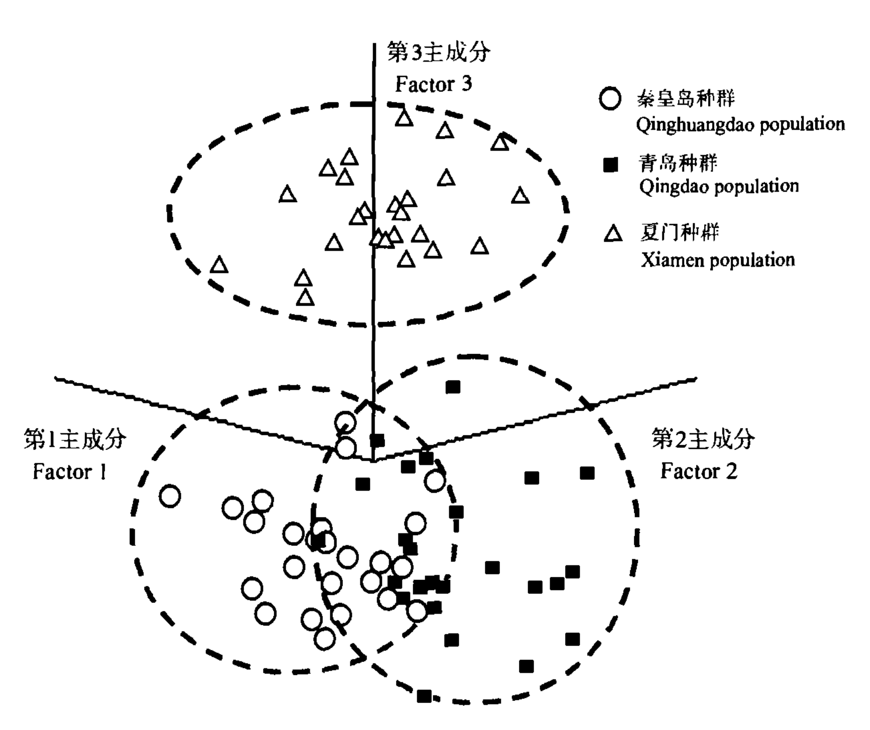


图 2　文昌鱼秦皇岛、青岛和厦门种群 18 个形态特征前 3 个主成分分布图

Fig. 2　Plot of the first three principal components from PCA based on 18 morphological characters of Qinghuangdao, Qingdao and Xiamen amphioxus populations

维普资讯 http://www.cqvip.com

程度的分化，但是两者在形态和数量特征上相似程度仍较高。本文聚类和主成分分析结果证实了 Cao et al (2001) 的研究结果，即厦门文昌鱼为一独立类群，而秦皇岛与青岛文昌鱼则可能同起源于一个大的原始类群。但我们认为秦皇岛与青岛种群间已有逐渐分化的趋势。

3.2 聚类分析和主成分分析的比较

聚类分析和主成分分析为常用的多元统计分析方法。在本文探讨三地种群的关系上，两种分析方法的结果基本一致，即均能明显区分厦门种群为一独立地理种群。但在分析秦皇岛和青岛种群的相互关系上，两者所显示的结果则有所不同：在聚类图（图 1）上，秦皇岛和青岛种群在两种群内个体间相互混杂，种群区分不明显；而从主成分分析图（图 2）上，秦皇岛和青岛种群之间已呈现出一定的分化趋势。并且方差分析的结果已表明，秦皇岛和青岛种群在全长、腹孔肛门间肌节数、生殖腺数等 14 个形态特征上也存显著差异。由此说明在本文结果上主成分分析较聚类分析更为客观。

参考文献：

Cao YP, Yan LN, Xie S, Liu Z. 2001. Preliminary investigation of amphioxus in Changli [J]. *Chinese Journal of Zoology*, **36** (3): 10-13. [曹玉萍，闫路娜，谢 松，刘 震. 2001. 昌黎海区文昌鱼初步调查. 动物学杂志，**36** (3): 10-13.]

Li CX, Wang ZH, Wang WL. 2000. Biostatistics (2nd) [M]. Beijing: Science Press. [李春喜，王志和，王文林. 2000. 生物统计学(第二版). 北京：科学出版社.]

Ma BR. 2001. Using SPSS for Windows for medical data analysis (2nd) [M]. Beijing: Science Press. [马斌荣. 2001. SPSS for windows 在医学统计中的应用（第二版）. 北京：科学出版社.]

Song SD, Zhou JY. 1998. Comparison of some multivariate statistical methods used in numerical taxonomy [J]. *Acta Universitatis Agriculturalis Boreali-Occidentalis*, **26** (3): 71-75. [宋世德，周静芋. 1998. 数值分类的几种多元统计方法的比较. 西北农业大学学报，**26** (3): 71-75.]

Tchang S, Koo KC. 1936. Description of a new variety of *Branchiostoma belcheri* Gray from Kiaochow Bay, Shantung, China [J]. *Cont. Inst. Zool. Hat. Acad. Peping*, **3** (4): 76-114.

Wang YQ, Xu QS, Peng XX, Zhou HT. Taxonomic status of amphioxus *Branchiostoma belcheri* in Xiamen beach estimated by homologous sequence of Cyt *b* gene [J]. *Acta Zoologia Sinica*, **50** (2): 202-208. [王义权，许群山，彭宣宪，周涵韬. 2004. 通过 Cyt *b* 基因同源序列比较对厦门文昌鱼（*Branchiostoma belcheri*）分类学地位的评估. 动物学报，**50** (2): 202-208.]

Zhang ZL . 1988. A study on morphology of *Branchiostoma belecheri* (Gray) in the southern China coastal waters [J]. *Fujian Fisheries*, (3): 1-6. [张庄丽. 1988. 中国南部沿海文昌鱼形态的研究. 福建水产，(3): 1-6.]

Zhou CW. 1958. Compare study of amphioxus in China [J]. *Journal of Shangdong University*, (1): 162-204. [周才武. 1958. 中国文昌鱼的比较研究. 山东大学学报，(1): 162-204.]

Zhou HT, Lian YW, Qiu JP, Ye F, Zeng GS. 2003. Study on the genetic diversity of amphioxus [J]. *Marine Sciences*, **27** (11): 68-74. [周涵韬，连玉武，邱检萍，叶帆，曾国寿. 2003. 厦门文昌鱼遗传多样性研究. 海洋科学，**27** (11): 68-74.]